Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 3, Fall 2022, p. 657-669

Evaluation of Changes in Alkaloid Content and some Physiological Traits of *Datura stramonium* L. under the Influence of Planting Date and Plant Density Levels

Z. Izadi[1], A. Biabani[2]*, H. Sabouri[3], B. Bahreininejad[4], A.L. Qolizadeh[5]

Received: 05-11-2021 Revised: 04-12-2021 Accepted: 25-12-2021 Available Online: 25-11-2022	**How to cite this article:** Izadi, Z., Biabani, A., Sabouri, H., Bahreininejad, B., & Qolizadeh, A.L. (2022). Evaluation of Changes in Alkaloid Content and some Physiological Traits of *Datura stramonium* L. under the Influence of Planting Date and Plant Density Levels. *Journal of Horticultural Science 36*(3): 657-669. (In Persian with English abstract) **DOI**: 10.22067/jhs.2021.72958.1095

Introduction

Datura stramonium L. is one of the medicinal plants that have a special role in the pharmaceutical industry due to its alkaloid compounds. *Datura* is one of the most important medicinal species that is a rich source of alkaloid compounds. Important phytochemical compounds in Datura, especially alkaloids, have been considered by the pharmaceutical industry. Datura *(Datura stramonium* L.) is an annual plant of the Solanaceae family, which is native to North America and is found in abundance in the coastal areas of northern Iran from Astara to eastern Mazandaran. Important phytochemical compounds in tattoos, especially alkaloids, have been considered by the pharmaceutical industry. Tropane alkaloids are one of the most important compounds in plants of the Solanaceae family and the anticholinergic effects of these compounds have made their use common in medicine. Important tropane alkaloids include hyoscyamine, ascopolamine, and atropine in *D. stramonium*. Plant growth is a set of specific biochemical and physiological processes that interact with each other and are affected by environmental factors such as temperature, light intensity, etc. that are affected by the date of planting. In the meantime, analyzing the amounts of photosynthetic pigments is a way to justify and interpret the plant's reactions to different environmental conditions during the growing period, through which it is possible to transfer and accumulate photosynthetic products. Due to the importance of *D. stramonium* and its widespread use in the pharmaceutical industry, Since Datura plant has not been adequately studied in the literature, the purpose of investigating three different planting date and planting density levels in this plant is to determine their proper values which increase the alkaloids and photosynthetic pigments, resulting in grain growth and yield increment.

Materials and Methods

This research during two consecutive years (1397-1397 and 1397-1398) in Shahid Fozveh research station affiliated to Isfahan Agricultural Research and Training Center and Natural Resources located 25 km west of Isfahan (Latitude: 32°36′37″ N, Longitude: 51°26′52″ E . 1612 m above sea level), which according to the Gauchen division has a mild semi-desert climate. The experiment was performed as a factorial experiment in the form of randomized complete blocks with three replications. Treatments included three densities (6, 10 and 14) plants per square meter and planting date in autumn and spring. Autumn planting of *D. stramonium* for the first year of the experiment was done on 3 January and in the second year on 30 December. In the spring planting of *D. stramonium*, due to the long growing season, in order to be productive during the growing season, first the

---

1, 2, 3 and 5- Ph.D., Associate Professors and Assistant Professor Department of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: abbas.biabani@gonbad.ac.ir)
4- Research Division of Natural Resources, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran

seed of the plant was planted in the planting trays and then in the 3 to 4 leaf stage the seedlings were transferred to the main land. In both years of testing, the seeds were sown on the date of spring planting in March. Field operations including plowing, disc, leveling, preparation and preparation of atmosphere and ridges were carried out in the field. According to different fertilizer levels and density levels, each replication included 9 experimental plots. The length of each plot was 5 m and its width was 3 m, which included 5 rows with a distance of 60 cm. The distances of the plants on the ridge were considered as 15, 20 and 33 cm 33, respectively, according to the densities (6, 10 and 14 plants per square meter). The distance between the replicates was 1 m and the distance between the plots from each other was considered a planting line. The data were analyzed using SAS software version 9.4. The means were compared with LSD test at 5% level and graphs were drawn using EXCEL software version 2010.

Conclusion

According to the results, the density of 6 plants per hectare on the date of autumn planting improved seed yield and increased hyoscyamine and alkaloids. In fact, the density of 6 plants per square meter in this study increased grain yield and the amount of hyoscyamine and ascopolamine. At low plant densities in this study, including densities of 6 and 10 plants per square meter, the amount of photosynthetic pigments increased. Also, maintaining the amount of chlorophyll in young leaves causes a delay in the aging process and increases the durability of the leaf surface, which will have a significant effect on the transfer of photosynthetic material to the seed. More and slower nourishing material is transferred to the grain, so the grain filling period will be longer. The results show that by selecting proper levels of plant density and planting date as two of the most important crop management practices, the number of tropane alkaloids in Datura as one of the important active ingredients in the pharmaceutical industry increases.

Keywords: Ascopolamine and Hyoscyamine, *Datura*, Phoattosynthetic pigments

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱، ص. ۶۶۹-۶۵۷

بررسی تغییرات محتوای آلکالوئیدها و برخی صفات فیزیولوژیک گیاه دارویی تاتوره (*Datura stramonium* L.) تحت تاثیر تاریخ کاشت و سطوح تراکم بوته

زهرا ایزدی[۱]- عباس بیابانی[۲*]- حسین صبوری[۳]- بابک بحرینی نژاد[۴]-زنده یاد عبدلطیف قلی زاده[۵]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۰۴

چکیده

گیاه تاتوره (*Datura stramonium* L.) به لحاظ دارا بودن ترکیبات آلکالوئیدی جایگاه ویژه‌ای در صنایع دارویی دارد. ترکیبات فیتوشیمیایی مهم موجود در تاتوره به‌ویژه آسکوپولامین و هیوسیامین آن را برای صنایع داروسازی مورد توجه قرار داده است. به‌منظور بررسی سه سطح تراکم کاشت (۶، ۱۰ و ۱۴ بوته در متر مربع) در دو تاریخ (کاشت پاییزه و بهاره) بر رنگدانه‌های فتوسنتزی، آلکالوئیدها و عملکرد دانه تاتوره، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط مزرعه‌ای طی سال‌های زراعی ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ در ایستگاه تحقیقاتی شهید فزوه، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان به اجرا درآمد. بر اساس نتایج بدست آمده تاریخ کاشت بر میزان آسکوپولامین و هیوسیامین تاتوره و عملکرد دانه اثر معنی‌داری در سطح یک درصد داشت اما بر رنگدانه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a و b اثر معنی‌داری نداشت. همچنین تاریخ کاشت بهاره نیز سبب کاهش صفات مورد بررسی گردید. در واقع تراکم ۶ بوته در متر مربع سبب افزایش عملکرد دانه و مقدار هیوسیامین و آسکوپولامین گردید، این در حالی است که، بیشترین مقدار کاروتنوئیدها ۰/۴۶۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ در تیمار ۱۴ بوته در متر مربع مشاهده گردید. در تراکم‌های ۶ و ۱۰ بوته در متر مربع مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a و کلروفیل b افزایش یافت. همچنین تراکم بوته در تمامی صفات فوق اثر معنی‌داری داشت، بطوری‌که بیشترین مقدار آسکوپولامین در تیمار ۶ بوته در متر مربع (۳/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن دانه) بدست آمد. در تاریخ کاشت پاییزه عملکرد دانه در تیمار تراکم ۶ بوته با ۱۱۷۴/۷۲ کیلوگرم در هکتار بدست آمد. بر اساس نتایج بدست آمده تراکم ۶ بوته در هکتار در تاریخ کاشت پاییزه سبب بهبود عملکرد دانه و افزایش هیوسیامین و آلکالوئید گردید.

واژه‌های کلیدی: تاتوره، رنگدانه‌های فتوسنتزی، آسکوپولامین و هیوسیامین

مقدمه

تاتوره (*Datura stramonium* L.) گیاهی است یکساله از خانواده Solanaceae که بومی امریکای شمالی است (Oseni *et al.*, 2010) و در نواحی ساحلی شمال ایران از آستارا تا شرق مازندران به وفور دیده می‌شود (Niakan *et al.*, 2015). ترکیبات فیتوشیمیایی مهم موجود در تاتوره به‌ویژه آلکالوییدها آن را برای صنایع داروسازی مورد توجه قرار داده است. تروپان آلکالوئیدها از مهمترین ترکیبات موجود در گیاهان خانواده‌ی سولاناسه بوده و اثرات آنتی‌کولینرژیکی[۵] این ترکیبات کاربرد آن‌ها را در پزشکی متداول کرده است. از جمله تروپان آلکالوئیدهای مهم می‌توان به هیوسیامین، آسکوپولامین و

۱، ۲، ۳ و ۵- به‌ترتیب دانش آموخته دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشیاران و استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

(*- نویسنده مسئول: Email: abbas.biabani@gonbad.ac.ir)

۴- دانشیار، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

DOI: 10.22067/jhs.2021.72958.1095

۵- آنتی‌کولینرژیک به مواد یا داروهایی گفته می‌شود که با بلوک گیرنده استیل کولین (موسکارینی یا نیکوتینی) بر روی غشاء سلول هدف یا سلول پس سیناپسی مانع تأثیر استیل کولین می‌شوند. معروف‌ترین مواد آنتی کولینرژیک داروهای آنتی کولینرژیک مانند هیوسین، دیسیکلومین، آتروپین، تری‌هگزیفنیدیل، بنزتروپین، بی‌پریدن هستند.

آتروپین در تاتوره اشاره کرد (Al-Humaid, 2005). آلکالوئیدهای تروپانی عمدتا در گیاهان خانواده بادمجان Solanaceae، نظیر تاتوره، بذرالبنج و شابیزک یافت می‌شوند و هیوسیامین، آتروپین، اسکوپولامین و کوکائین معروف ترین آلکالوئیدهای تروپانی می‌باشند. مشخصه‌ی تروپان آلکالوئیدها، یک گروه متیل متصل به اتم نیتروژن می‌باشد که این چنین ساختمانی در استیل کولین های انتقال دهنده امواج عصبی در اعصاب مغز نیز دیده می‌شود. خاصیت بیهوش کنندگی و مسکن این آلکالوئیدها به همین دلیل می‌باشد. آلکالوئیدهای تروپانی کاربردهای مختلفی در پزشکی دارند که می‌توان به مواردی مانند آرام نمودن علایم بیماری پارکینسون، گشاد کردن مردمک چشم و افزایش ضربان قلب، خنثی کردن سستی ماهیچه‌های صاف ناشی از ترکیبات فسفره آلی و کاهش ترشح عرق و اسید معده اشاره نمود (He *et al*., 2020). تاتوره اگرچه گیاهی است که کل اندام‌های آن حاوی آلکالوئیدها می‌باشد اما به طور عمده دانه و برگ آن دارای بیشترین مقادیر آلکالویید می‌باشند (Berkov *et al*., 2006). تعیین تراکم کاشت مناسب از مهم‌ترین فعالیت‌های مدیریتی است که باعث بهبود عملکرد و بهره وری گیاهان می‌شود (Shiferaw *et al*., 2018). بررسی اثر سطوح تراکم بوته بر روی کلزا نشان داد که سطوح بالای تراکم سبب افزایش چشمگیر در مقدار کلروفیل و عملکرد دانه گردید (Tian *et al*., 2020). آنتوسیانین‌ها جز متابولیت‌های ثانویه حاصل از مسیر فنیل‌پروپانوئید می‌باشند و آنزیم فنیل آلانین آمونیالاز آغازگر این مسیر است که L–فنیل آلانین را با دآمیناسیون[1] به ترانس سینامیک اسید تبدیل می‌کند. این مسیر، مسیر اصلی بیوسنتز متابولیت های ثانویه در سول‌های گیاهی می‌باشد. این آنزیم نیز نقش کلیدی در تشکیل ترکیب‌های فنولی دارد و به عنوان یکی از شاخص‌های حساس به تغییرات محیطی مانند تراکم کاشت مطرح می‌باشد. بنابراین به نظر می‌رسد که کاشت گیاه در تراکم مطلوب گیاهی در سنتز آنزیم مذکور موثر بوده و بدین وسیله تولید آنتوسیانین‌ها تحت تاثیر قرار گرفته و در نهایت عملکرد کمی و کیفی گیاه بهبود می‌یابد (Vogt, 2010). کاروتنوئیدها همچنین نور جذب شده رابه کلروفیل‌ها منتقل کرده و باعث افزایش کارایی کلروفیل‌ها می‌شوند. این رنگیزه‌ها لازمه ساختار غشاء تیلاکوئیدی هستند و با بسیاری از پروتئین‌هایی که در دستگاه فتوسنتز دخالت دارند، ارتباط تنگاتنگی دارند (Emadi *et al*., 2012). به منظور تصمیم‌گیری کشت یک گیاه جدید، در منطقه جدید باید جزئیات اثر متقابل گیاه با عوامل زراعی، ژنتیکی و اقلیمی مشخص شود (Bakhshndeh *et al*., 2011). تصمیم‌گیری در مورد زمان کاشت مطلوب گیاهان دارویی بسیار با اهمیت بوده و از عوامل مهم جهت کسب حداکثر عملکرد در گیاهان می‌باشد. تاثیر عوامل محیطی بر مراحل فنولوژیکی گیاه باعث می‌شود که تاریخ کاشت در مناطق مختلف، متفاوت باشد (Hadley *et al*., 1983). در واقع، بین تیمارهای زراعی تاریخ کاشت بیشترین تاثیر را بر ویژگی‌های فنولوژیک و فیزیولوژیک گیاهان دارد، با انتخاب تاریخ کاشت بهینه می‌توان میزان تطابق مراحل رشد گیاه را با شرایط اقلیمی افزایش داد (Saberi and Azarmjoo, 2015). تاخیر در کاشت بهاره و افزایش دما در زمان کاشت گیاهان باعث مواجه شدن گیاه با دماهای بالا و افزایش سرعت رشد گیاه و کاهش طول مراحل مختلف فنولوژیکی می‌گردد. کاهش سطح برگ در اثر تاخیر در کاشت بهاره، موجب کاهش دریافت نور خورشید و افت بیشتر فتوسنتز می‌شود و از طرف دیگر محدودیت رشد ریشه باعث می‌شود که میزان دسترسی گیاه به آب و مواد معدنی کاهش می‌یابد و مجموع عوامل یاد شده سبب کاهش عملکرد خواهد شد (Bakhshndeh *et al*., 2011). رشد گیاه مجموعه‌ای از فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی خاصی است که اثرات متقابل بر یکدیگر داشته و تحت تأثیر عوامل محیطی از جمله درجه حرارت، شدت نور و غیره قرار می‌گیرند که متأثر از تاریخ کاشت می‌باشند. در این بین، تجزیه و تحلیل مقادیر رنگدانه‌های فتوسنتزی، روشی برای توجیه و تفسیر واکنش‌های گیاه نسبت به شرایط مختلف محیطی در طول دوره رویش می‌باشد که از طریق آن می‌توان چگونگی انتقال و انباشت فرآورده‌های فتوسنتزی را در اندام‌های مختلف با اندازه‌گیری ماده خشک تولید شده بدست آورد (Seyed Sharifi *et al*., 2006). با توجه به اهمیت گیاه دارویی تاتوره و مصرف گسترده آن در صنایع داروسازی، این پژوهش با هدف بررسی اثر سطوح مختلف تراکم بوته و تاریخ کاشت بر رنگدانه‌های فتوسنتزی و نیز اندازه‌گیری سطح هیوسیامین و اسکوپولامین با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) این گیاه به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش طی دو سال متوالی (۱۳۹۷- ۱۳۹۶ و ۱۳۹۸-۱۳۹۷) در ایستگاه تحقیقاتی شهید فزوه وابسته به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان واقع در ۲۵ کیلومتری غرب اصفهان (عرض جغرافیایی۳۲ درجه و ۳۶ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۶ دقیقه شرقی با ارتفاع ۱۶۱۲ متر از سطح دریا) که بر اساس تقسیم بندی گوسن دارای اقلیم نیمه بیابانی خفیف است، اجرا شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل سه تراکم (۶، ۱۰ و ۱۴ بوته در متر مربع) و تاریخ کاشت در دو شرایط پاییزه و بهاره بودند. کاشت پاییزه تاتوره برای سال اول آزمایش در تاریخ ۳ دی ماه و در سال دوم در تاریخ ۳۰ آذر ماه انجام شد. ژنوتیپ کاشته شده

۱- دآمیناسیون عبارت است از جداسازی گروه آمین (NH_2)

تاتوره، ژنوتیپ اصفهان بود که از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان تهیه گردید. در کاشت بهاره تاتوره، با توجه به طولانی بودن دوره رشد و به منظور بهره‌وری از طول فصل رشد ابتدا بذر گیاه در سینی‌های نشاء کاشته شد و سپس در مرحله ۳ تا ۴ برگی گیاهچه‌ها به زمین اصلی منتقل شد. جهت انجام نشاء در هر دو سال آزمایش، اواخر بهمن ماه اقدام گردید و سپس در اواخر فروردین ماه گیاهچه‌ها به زمین اصلی منتقل شد. عملیات زراعی شامل شخم، دیسک زنی، تسطیح، آماده سازی و تهیه جوی و پشته در مزرعه انجام شد. با توجه به سطوح مختلف کود و سطوح تراکم در نظر گرفته شده، هر تکرار شامل ۹ کرت آزمایشی بود. طول هر کرت ۵ متر و عرض آن ۳ متر در نظر گرفته شدکه شامل ۵ ردیف با فاصله ۶۰ سانتی‌متر بود. فواصل بوته‌ها روی پشته با توج به تراکم‌ها به‌ترتیب (۶، ۱۰ و ۱۴ بوته در تر مربع) ۱۵، ۲۰ و سانتی متر ۳۳ در نظر گرفته شد. فاصله بین تکرارها ۱ متر و فاصله بین کرت‌ها از یکدیگر یک خط نکاشت در نظر گرفته شد. همچنین طی هر دو سال بذور با توجه به تراکم‌های مورد نظر و با توجه به نقشه کاشت در عمق ۳-۲ سانتی‌متری کشت شد، بطوری‌که در هر گودال ۲-۳ بذر قرار داده شد و بلافاصله بعد از کاشت آبیاری انجام گردید. پس از سبز شدن بوته‌ها در هر نقطه یک بوته نگهداری و مابقی در مرحله ۶ برگی تنک شد. مبارزه با علف‌های هرز تا زمان استقرار گیاه به صورت مکانیکی انجام گرفت. جهت تعیین نیاز کودی و برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، قبل از انجام ازمایش سه نمونه از هر تکرار از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری خاک به‌طور تصادفی تهیه شده و پس از اختلاط، نمونه ترکیبی یک کیلوگرمی جهت تجزیه به آزمایشگاه خاکشناسی ارسال شد. بر اساس نتایج آزمون خاک ۱۰۰ کیوگرم فسفر خالص در هکتار به‌صورت P_2O_5 (از منبع سوپر فسفات تریپل) مورد استفاده قرا گرفت. تمام کود فسفر به صورت نواری همزمان با بذرکاری مصرف شد. همچنین صفات مختلف شامل کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها و آنتوسیانین در مرحله گلدهی و از بافت تازه برگی اندازه‌گیری شدند. در هر دو سال، جهت اندازه‌گیری عملکرد دانه در هکتار، گیاهان هر کرت با حذف اثرات حاشیه‌ای برداشت شدند. سپس نمونه‌هایی برای تعیین وزن خشک به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفت و پس از توزین، در نهایت عملکرد دانه اندازه‌گیری شدند.

نتایج حاصل از تجزیه خاک در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه در دو سال آزمایش

Table 1- Physical and chemical properties of the studied soil in two years of experiment

سال Year	هدایت الکتریکی Electrical conductivity ($dS.m^{-1}$)	اسیدیته pH	پتاسیم Potassium ($mg.kg^{-1}$)	فسفر Phosphorus ($mg.kg^{-1}$)	نیتروژن کل Total nitrogen (%)	ماسه Sand (%)	سیلت Silt (%)	رس Clay (%)
2018	2.8	7.6	252	10.8	0.03	46	25	33
2019	3.5	6.5	275	8.5	0.06	45	28	34

اندازه‌گیری میزان کلروفیل با استفاده از روش آرنون (۲) و کاروتنوئید با استفاده از روش لیچانلدر (Lichtenthaler, 1987) در مرحله گلدهی انجام شد در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل *a*، *b* و کاروتنوئیدها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه به دست آمد.

$$\text{Chlorophyll } a = (19.3 * A663 - 0.86 * A645)\ V/100W$$

$$\text{Chlorophyll } b = (19.3 * A645 - 3.6 * A663)\ V/100W$$

$$\text{Carotenoids} = 100(A470) - 3.27(\text{mg chl. } a) - 104(\text{mg chl. } b)/227$$

V = حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفوژ)

A = جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر

W = وزن تر نمونه بر حسب گرم

اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین

به منظور سنجش میزان آنتوسیانین‌ها از روش واگنر (Wagner, 1979) استفاده شد. مقدار انتوسیانین با استفاده از فرمول A=Ɛbc به دست آمد. در این رابطه، A: شدت جذب، b: عرض کوت برابر با ۱ سانتی‌متر، c: غلظت آنتوسیانین (میلی‌لیتر بر گرم) و Ɛ: ضریب خاموشی برابر با ۳۳۰۰۰ مول بر سانتی‌متر است.

استخراج آلکالوئیدهای هیوسیامین و آسکوپولامین

به منظور استخراج آلکالوئیدها، ۵۰ میلی‌گرم از پودر خشک بذر از هر نمونه در ۸ میلی‌لیتر محلول هیدروکسید آمونیوم (NH_4OH)، متانول (CH_3OH)، کلروفوم ($CHCL_3$) به ترتیب به نسبت ۱۵:۵:۱ به مدت ۶ ساعت خیسانده شد و در فواصل زمانی یک ساعت با استفاده از ورتکس همزده شد. پس از خالی نمودن حلال، افزودن محلول استخراج به حجم ۵ میلی‌لیتر و خیساندن مجدد به مدت ۲۰

دقیقه همراه با همزدن صورت گرفت. این عمل دو مرتبه تکرار گردید و مجموعه محلول استخراج حاوی عصاره گیاهی بااستفاده از فیلتر پنبه ای صاف شد و در لوله‌های ۲۰ سانتی‌متری و در دمای $27\ ^{o}C$ در شرایط تاریکی نگه‌داری شد. برای آنالیز ترکیبات با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، از ستون (i.d. 6.4 ×250mm) و از محلول SDS ۱۰میلی‌مولار- استونیتریل (MeCN- 10Mm SDS) به نسبت ۲:۳ بعنوان فاز متحرک استفاده شد. تنظیم pH فاز متحرک با استفاده از (H_3PO_3) یک درصد به میزان ۳/۳ صورت گرفت. پودر خشک استخراج شده از هر نمونه در یک میلی‌لیتر فاز متحرک با استفاده از ورتکس و سونیکاسیون حل گردید و ۲۰ میکرولیتر از هر نمونه به دستگاه تزریق گردید. از اشعه ماوراء بنفش با طول موج حدود ۲۱۵ نانومتر برای سنجش آلکالوئیدها استفاده شد. سرعت جریان فاز متحرک ۱/۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود. دو محلول پایه استاندارد جداگانه با غلظت‌های ۱۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر برای آسکوپولامین و ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر برای هیوسیامین تهیه شد. دو محلول استاندارد مذکور به عنوان شاهد برای مقادیر ۰/۵ میلی‌گرم آسکوپولامین و ۱ میلی‌گرم هیوسیامین در یک گرم پودر بذر تهیه گردید و از هر محلول پایه استاندارد نیز مقدار ۲۰ میکرولیتر تزریق گردید (Hosseini *et al.*, 2011).

تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ تجزیه و تحلیل شدند. میانگین‌ها توسط آزمون LSD در سطح پنج درصد مقایسه شدند و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار EXCEL نسخه ۲۰۱۰ انجام شد. قبل از انجام هر گونه تجزیه و تحلیل، به دلیل اینکه طرح تجزیه مرکب است، آزمون یکنواختی واریانس‌ها انجام شد و مشاهده شد که واریانس خطا بین دو سال مختلف یکسان بود.

بحث و نتایج

کلروفیل a

نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی گیاه تاتوره در دو سال زراعی ۹۷ و ۹۸ نشان داد که سطوح متفاوت تراکم بوته اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر مقدار کلروفیل a داشتند (جدول ۳). بر اساس نتایج تجزیه مرکب اثر سطوح مختلف تراکم و تاریخ کاشت در سطح یک درصد بر مقدار کلروفیل a و b معنی‌دار گردید (جدول ۲). همانگونه که در جدول ۲ نشان داده شده است، سطوح تراکم اثر معنی‌داری بر مقدار کلروفیل a نداشتند. مقایسات میانگین نیز حاکی از آن است که افزایش سطوح تراکم بوته سبب کاهش کلروفیل a گردید (شکل ۲). همانگونه که مقایسات میانگین نشان داد تراکم‌های زیاد تاثیر منفی معنی‌داری بر میزان کلروفیل a داشته‌اند (Javadi *et al.*, 2020). کاهش میزان کلروفیل a در اثر افزایش تراکم باعث کاهش جذب نور، کاهش فتوسنتز، کاهش مواد پرورده و در نهایت سبب کاهش عملکرد می‌گردد. نتایج برخی تحقیقات نشان داد که با افزیش تراکم میزان کلروفیل a تا یکحد مطلوب افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد. دلیل این کاهش ممکن است، ناشی از عوامل درونی گیاه بر اثر رقابت بوته‌ها برای جذب عناصر غذایی خاک باشد. همچنین کاهش سطح برگ بر اثر افزایش تراکم ممکن است سبب کاهش میزان کلروفیل در برگ گردد (Harries and White, 2007).

کلروفیل b

نتایج تجزیه واریانس مرکب در جدول ۲ و نتایج تجزیه واریانس دو سال زراعی بطور جداگانه در جدول ۳ ارائه شده است. میزان کلروفیل b در هر دو سال آزمایش تحت تاثیر سطوح مختلف تراکم بوته قرار گرفتند. همچنین نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که سطوح تراکم بوته تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر میزان کلروفیل b داشته اند. تغییرات میزان کلروفیل b در سطوح تراکم بوته نشان داد که افزایش تراکم بوته سبب کاهش میزان کلروفیل b شده است (شکل ۲). یکی از عوامل مهم در هنگام بررسی میزان کلروفیل b در تراکم بالا، کاهش مواد فتوسنتزی ذخیره شده می‌باشد که از دو مبداء عمده یعنی فتوسنتز جاری قسمت‌های سبز غیر از برگ و انتقال مواد فتوسنتزی ذخیره شده در سایر اندام‌های گیاه تامین می‌شود (Javadi *et al.*, 2020).

کاروتنوئیدها

اثر تراکم بر میزان کاروتنوئید برگ تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد داشت (جدول ۲). تاریخ کاشت تاثیر معنی‌داری بر میزان کاروتنوئیدها نداشت. بیشترین مقدار کاروتنوئیدها ۰/۴۶۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ در تیمار ۱۴ بوته در متر مربع مشاهده گردید (شکل ۲). با توجه به افزایش مقدار کلروفیل a و b در تیمارهای ۶ و ۱۰ بوته در متر مربع (شکل ۲) می‌توان نتیجه گرفت که کاهش کاروتنوئید در این تیمارها به علت حضور کلروفیل بوده است. کاروتنوئیدها رنگدانه‌های غیر سبز رنگ موجود در برگ‌ها هستند که نقش مهمی در حفاظت از رنگدانه‌های سبز رنگ از جمله کلروفیل‌ها دارند. افزایش تراکم بوته سبب افزایش میزان کاروتنوئیدها در برگ گردید که با نتایج عمادی و همکاران (Emadi *et al.*, 2012) مطابقت دارد. در زمان فتوسنتز، کاروتنوئیدها به عنوان محافظ کلروفیل گیاه عمل می‌کنند، به طوری که با رشد گیاه و ظهور رنگ نهایی همگام با کاهش کلروفیل مقدار کاروتنوئید زیاد می‌شود.

جدول ۲- تجزیه واریانس مرکب رنگدانه‌های فتوسنتزی و آلکالوئیدهای گیاه تاتوره در دو سال زراعی

Table 2- Combined analysis of variance for photosynthetic pigments and alkaloids content of Jimsonweed plant in two cropping years.

منابع تغییر Sources Change	درجه آزادی Degrees of freedom	کلروفیل a Chlorophyll *a*	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoids	آنتوسیانین Anthocyanins	هیوسیامین Hyoscyamine	آسکوپولامین Ascopolamine	عملکرد آسکوپولامین Ascopolamine yeild	عملکرد هیوسیامین Hyoscyamine yeild	عملکرد دانه Grain yeild
سال Year	1	0.004ns	0.177ns	0.359**	0.08ns	0.123ns	0.0031ns	0.007ns	0.0014ns	1059796.6**
تکرار × سال Repeat × year	4	0.696**	0.048ns	0.006ns	0.857ns	0.0187ns	0.0036ns	0.126**	1184.96**	0.0093**
تاریخ کاشت Planting date	2	0.151ns	0.143ns	0.0002ns	0.225ns	20.048**	0.198**	0.0044**	0.143**	2263439.34**
تراکم Density	2	36.332**	16.56**	0.150**	6.478**	15.215**	0.623**	0.0156**	0.076**	7354035.54**
تاریخ کاشت × تراکم Planting date × density	4	3.261**	1.042**	0.004ns	1.151**	0.45**	0.0345**	0.003ns	0.0373*	541490.78**
سال ×تاریخ کاشت Year × Date of planting	2	1.278**	1.822**	0.077**	0.409ns	0.007ns	0.0021ns	0.005**	0.069**	186990.51**
سال×تراکم Year × density	2	0.269ns	0.383**	0.0116ns	0.114ns	0.354ns	0.0016ns	0.0025**	0.048*	601384.03**
سال×تاریخ کاشت ×تراکم Year × Planting date × Density	4	0.288ns	0.678**	0.009ns	0.136ns	0.78ns	0.004ns	0.006ns	0.022ns	413585.59**
خطا Error	32	0.199	5.054	0.0077	0.145	0.105	0.0034	0.004	0.009	86325.7
ضریب تغییرات (درصد) Change coefficient (percent)		18.50	16.01	26.41	19.85	11.75	7.18	21.9	30.77	26.37

**، * و ns: به ترتیبمعنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار.

*,** and ns: significant at the 5% of pobabilitylevel, significant at the 1% of probability level, and non- significant.

جدول ۳- تجزیه واریانس رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه تاتوره در دو سال زراعی ۹۷ و ۹۸

Table 3- ANOVA for photosynthetic pigment contents of Jimsonweed plant in two cropping years 2018 and 2019

سال Yeatr	منابع تغییر Sources change	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Mean squares				
			کاروتنوئید Carotenoids	کلروفیل *a* Chlorophyll *a*	کلروفیل *b* Chlorophyll b	عملکرد هیوسیامین Hyoscyamine yeild	عملکرد آسکوپولامین ascopolamine yeild
	تاریخ کاشت Planting date	2	0.103ns	0.002ns	0.129ns	0.005*	0.024*
۱۳۹۷ 2018	تکرار Repeat	1	15.56**	0.119**	15.63**	0.118**	9.866**
	تراکم Density	2	33.37**	0.108**	6.938**	0.291**	5.473**
	تاریخ کاشت × تراکم Planting date × density	4	0.137ns	0.04**	0.386ns	0.029**	0.289ns
	خطا Error	16	0.478	0.006	0.188	0.004	0.105
	ضریب تغییرات Change coefficient (%)		28.55	29.82	27.85	7.82	11.5
	تاریخ کاشت Planting date	2	0.052ns	0.004ns	0.312ns	0.001*	0.012*
	تکرار Repeat	1	21.04**	0.042**	19.97**	0.081**	10.189**
	تراکم Density	2	24.39**	0.005ns	1.063**	0.33**	10.096**
۱۳۹۸ 2019	تاریخ کاشت × تراکم Planting date × density						
	خطا Error	4	0.844**	0.008ns	0.078ns	0.0095*	0.24ns
	ضریب تغییرات Change coefficient (%)	16	0.148	0.0053	0.089	0.002	0.107
			15.99	18.66	18.27	6.42	12

**،* و ns : به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار

**,* and ns: significant at the 5% of probability level, significant at the 1% of probability level, and non-significant respectively.

هیوسیامین

نتایج حاصل از آنالیز عصاره‌های تهیه شده از دانه‌های تاتوره نشان داد که هیوسیامین در دانه گیاه وجود داشت. بر اساس نتایج تجزیه واریانس مرکب سطوح تراکم و تاریخ کاشت بر هیوسیامین در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). همچنین تجزیه واریانس در دو سال ۹۷ و ۹۸ نیز نشان داد که اثر سطوح تراکم و تاریخ کاشت بر صفت فوق در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). بیشترین مقدار آسکوپولامین در تاریخ کاشت پاییز و در تیمار ۶ بوته در متر مربع (۳/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن دانه) بدست آمد (شکل ۳). اختلاف در سطح آلکالوئیدها ناشی از فاکتورهای داخلی مانند سن گیاه و غیره وجود دارد که نسبت به عوامل خارجی و محیطی از اهمیت بیشتری برخوردارند. بنابراین تاریخ کاشت و تراکم به عنوان عامل مهمی در تولید آلکالوئیدها محسوب می‌گردد.

آسکوپولامین

نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که میزان آسکوپولامین به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمار تاریخ کاشت وتراکم بوته قرار گرفت (جدول ۲). همچنین در دو سال آزمایش سطوح تراکم بوته و تاریخ کاشت بر روی آسکوپولامین در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). بیشترین مقدار آسکوپولامین در تیمار تاریخ کاشت پاییز و تراکم ۶ بوته در متر مربع بدست آمد (شکل ۳). معنی‌دار شدن دو تیمار اعمال شده بر میزان آسکوپولامین در تاتوره نشان می‌دهد که اگر چه سنتز این مواد در اصل تحت کنترل فرایندهای ژنتیکی است، ولی به طور آشکار تحت تاثیر عوامل محیطی و تغییرات آن‌ها قرار

می‌گیرند. بنابراین از آنجایی که عوامل محیطی نقش عمده‌ای در فرآیند بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه دارند، بررسی تغییرات میزان آلکالوئیدها تحت شرایط محیطی مستلزم تحقیق گسترده تر در این زمینه می‌باشد.

عملکرد هیوسیامین

همانگونه که در جدول ۲ نشان داده شده است، اثر تاریخ کاشت و سطوح تراکم در سطح یک درصد بر عملکرد آلکالوئید هیوسیامین معنی‌دار گردید. همچنین نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تاریخ کاشت در سال ۹۷ بر عملکرد هیوسیامین در سطح احتمال یک درصد و اثر سطوح تراکم در سطح احتمال پنج درصد بر عملکرد هیوسامین معنی‌دار گردید (جدول ۳). در سال ۹۸ نیز اثر تاریخ کاشت در سطح احتمال یک درصد و اثر تراکم در سطح احتمال پنج درصد بر عملکرد هیوسیامین معنی‌دار گردید (جدول ۳). بررسی مقدار آلکالوئیدها در در دو تاریخ کاشت پاییز و زمستان نشان داد که درصد آلکالوئید هیوسیامین در تاریخ کاشت بهار بیشتر است (شکل ۶). بیشترین درصد هیوسیامین در تیمار ۶ بوته در متر مربع و در تاریخ کاشت پاییز بدست آمد (شکل ۶). این مشاهده می‌تواند نشان دهنده ارتباط میان دمای فصل رویش با میزان آلکالوئییدها باشد.

عملکرد آسکوپولامین

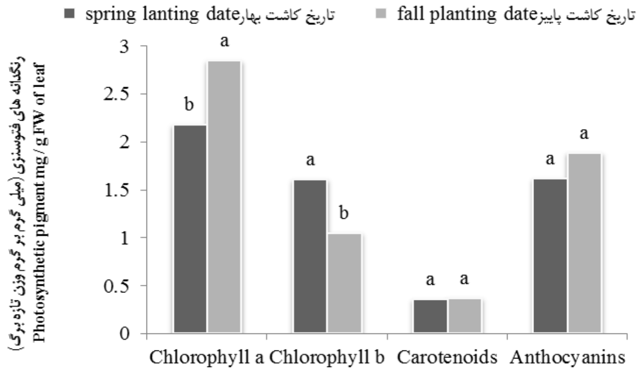
نتایج تجزیه مرکب نشان داد که اثر تاریخ کاشت و تراکم در سطح یک درصد بر عملکرد آسکوپولامین داشت (جدول ۲). بر اساس نتایج تجزیه واریانس نشان داده شده در جدول ۳ اثر تراکم و تاریخ کاشت در سال ۹۷ بر عملکرد اسکوپولامین در سطح یک درصد معنی‌دار گردید. در سال ۹۸ نیز اثر تاریخ کاشت در سطح احتمال یک درصد و اثر تراکم بوته در سطح پنج درصد معنی‌دار گردید. همچنین بیشترین درصد اسکوپولامین در تاریخ کاشت پاییز و در تیمار۱۰ و ۶ بوته در مربع (حدود ۵۵ درصد) و کمترین مقدار آن در تیمار ۱۴ بوته در متر مربع در تاریخ کاشت پاییز مشاهده گردید (شکل ۵). یکی از دلایل این مشاهدات می‌تواند، ارتباط سنتز آلکالوئیدها با دما و طول فصل رشد باشد.

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌ها نشان داد که تراکم‌های مختلف و تاریخ کاشت تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر عملکرد دانه داشتند (جدول ۲). با توجه به افزایش طول دوره‌ی رشد در اثر کاشت زود هنگام، گیاه فرصت کافی برای تکمیل فاز رویشی و زایشی خود را دارد ولی در کاشت دیر هنگام گیاه با گرمای آخرفصل رشد، روبرو شده است که باعث کاهش در عملکرد تاتوره شده است، لذا در تاریخ کاشت پاییز عملکرد دانه در تیمار تراکم ۶ بوته با ۱۱۷۴/۷۲ کیلوگرم در هکتار بود. این در حالی است که در همین تیمار در تاریخ کاشت بهار ۹۴۵/۳۴ کیلوگرم در هکتار بدست آمد (شکل ۷). افزایش عملکرد مشاهده شده احتمالاً به دلیل افزایش شاخص سطح برگ و استفاده بهتر از نور خورشید و سایر منابع طی فصل رشد و افزایش فتوسنتز می‌باشد، اما اصلی‌ترین دلیل افزایش عملکرد در تراکم کم، افزایش وزن بوته در واحد سطح و استفاده بهتر از نور و شرایط محیطی بوده است چون در این حالت رقابت بین بوته‌ای کاهش می‌یابد.

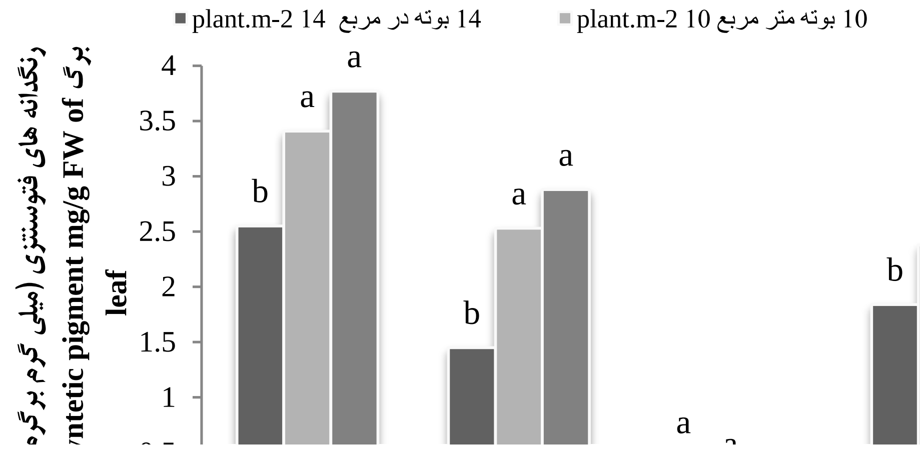
نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان چنین اظهار داشت که با افزایش تراکم رقابت بین گیاهان برای تولید مواد فتوسنتزی افزایش یافته است. با توجه به نقش مهم اکوفیزیولوژیک نور در تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی، تنظیم فاصله یک ابزار قدرتمند در افزایش رقابت بین گیاهان محسوب شده تا تولید بیشتر مواد موثره و عملکرد گیاهان کنترل شود. در یک نتیجه‌گیری کلی، با توجه به تاریخ کاشت‌های مورد مطالعه در این بررسی، تاریخ کاشت پاییز به دلیل انطباق با شرایط آب و هوایی منطقه اجرای آزمایش و بهره‌برداری بهینه از نهاده‌های تولید و طول فصل رشد، از عملکرد دانه و مقدار هیوسیامین و آسکوپولامین بالاتری برخوردار بود. همچنین تاریخ کاشت بهار نیز سبب کاهش صفات مورد بررسی گردید. در واقع تراکم ۶ بوته در متر مربع در این بررسی سبب افزایش عملکرد دانه و مقدار هیوسیامین و آسکوپولامین گردید. در تراکم‌های کم بوته در این بررسی از جمله تراکم ۶ و ۱۰ بوته در متر مربع مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی افزایش یافت. همچنین حفظ مقدار کلروفیل در برگ‌های جوان سبب تاخیر در روند پیری و بالا رفتن دوام سطح برگ می‌گردد که بر انتقال مواد فتوسنتزی به دانه تاثیر قابل ملاحظه‌ای خواهد داشت در نتیجه هر چقدر غلظت کلروفیل در برگ بیشتر باشد، دوام سطح برگ بیشتر و مواد پروده کند تر به دانه انتقال می‌یابد، بنابراین دوره پر شدن دانه طولانی‌تر خواهد شد. در نتیجه با انتخاب تاریخ کاشت مناسب مراحل مختلف رشد گیاه با شرایط مطلوب‌تر محیطی منطبق می‌شود و این امر سبب افزایش بازدهی فتوسنتز و در نتیجه ذخیره مطلوب مواد فتوسنتزی در دانه‌ها می‌گردد که با اظهارات رضوی مقدم و همکاران (Rezvani Moghadam *et al.*, 2008) مطابقت دارد.



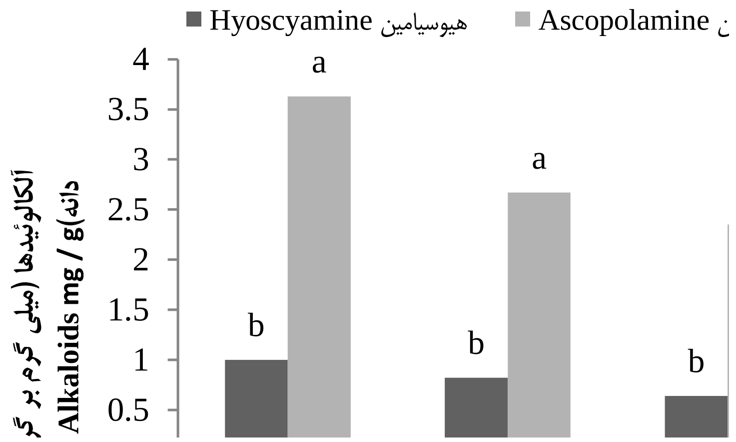
شکل ۱- محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاه تاتوره در تاریخ کاشت‌های مختلف در دو سال زراعی ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸

Figure 1- The content of photosynthetic pigments of Jimsonweed plant in the different planting dates in the two cropping years 2018 and 2019 (LSD, *p≤0.05*)



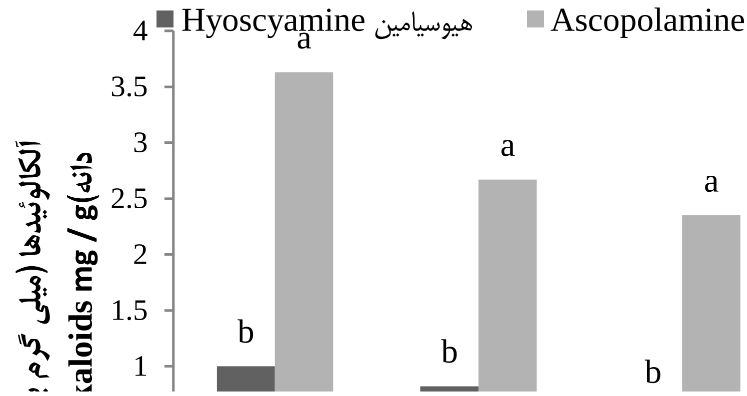
شکل ۲- محتوی رنگدانه های فتوسنتزی گیاه تاتوره در تراکم‌های مختلف در دو سال زراعی ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸

Figure 2 - The content of photosynthetic pigments of Jimsonweed plant in different plant densities in the two cropping years 2018 and 2019 (LSD, *p≤0.05*)



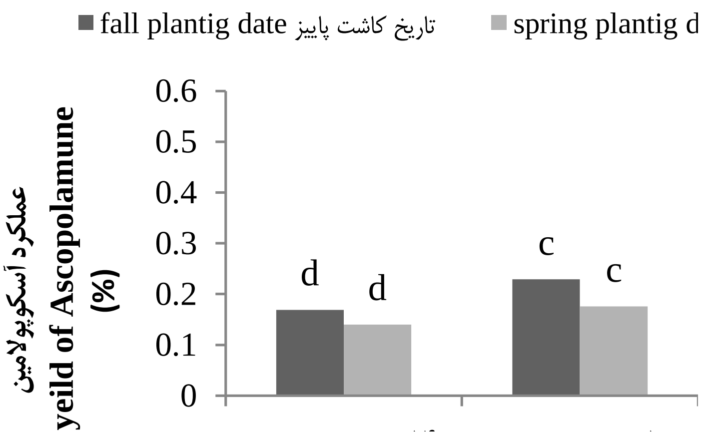
شکل ۳- محتوی آلکالوئیدهای هیوسیامین و آسکوپولامین گیاه تاتوره در سطوح متفاوت تراکم بوته

Figure 3- The content of hyoscyamine and ascopolamine alkaloids of Jimsonweed plant at different levels of plant density (LSD, *p≤0.05*)



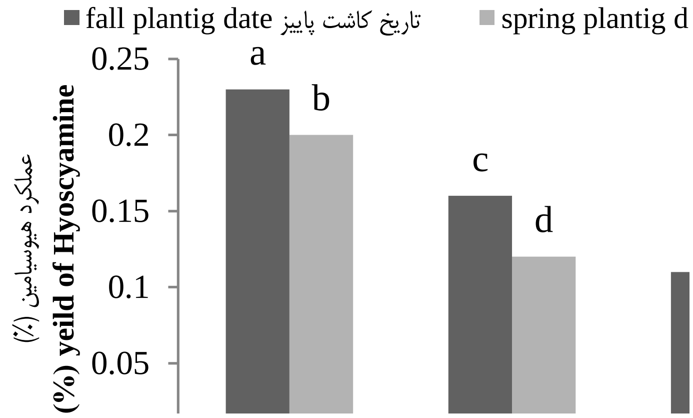
شکل ٤- محتوی آلکالوئیدهای هیوسیامین و آسکوپولامین در گیاه تاتوره در تاریخ کاشت‌های متفاوت

Figure 4- The content of hyoscyamine and ascopolamine alkaloids of Jimsonweed plant in different planting dates (LSD, *p≤0.05*)



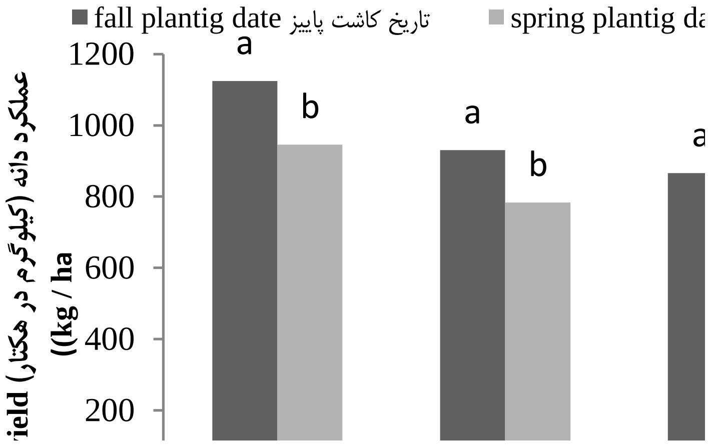
شکل ٥- اثر متقابل تراکم بوته × تاریخ کاشت برای عملکرد آسکوپولامین بذر تاتوره

Figure 5- The interaction effect of plant density ×planting date for the scopolamine yield of Jimsonweed seed (LSD, *p≤0.05*)



شکل ٦- اثرمتقابل تاریخ کاشت × تراکم بوته بر عملکرد هیوسیامین بذر تاتوره

Figure 6- The interaction effect of planting date ×plant density for the hyoscyamine yield of Jimsonweed seed (LSD, *p≤0.05*)



شکل ۷- عملکرد دانه داتوره در سطوح متفاوت تراکم بوته و در تاریخ کاشت پاییز و بهار

Figure 7- The grain yield of Jimsonweed at different levels of plant density in autumn and spring planting dates (LSD, *p≤0.05*)

منابع

1- Al-Humaid, A.I. (2005). Effects of compound fertilization on growth and alkaloids of datura plants. *Journal of Plant Nutrition 27*(12): 2203-2219.

2- Arnon, A.N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal 23*(1): 112-121.

3- Berkov, S., Zayed, R., & Doncheva, T. (2006). Alkaloid patterns in some varieties of *Datura stramonium*. *Fitoterapia 77*(3): 179-182.

4- Bakhshandeh, A., Soltani, A., Zeinali, A., Kalateh, M., & Ghadirian, R. (2011). Evaluation of allometric relationships of leaf area and vegetative traits in Durum cultivars. *Iranian Journal of Crop Sciences 13*(3): 657-642. (In Persian)

5- Emadi, N, Jahanbakhsh, Sh., & Baluchi, H. (2012). Effect of drought stress and plant density on yield and some physiological characteristics of *Phaseolous vulgaris* L. in Yasuj region. *Journal of Production and Processing of Crops and Horticultural Products* 8: 35-25. (In Persian)

6- Hadley, P., Summerfield, R.J., & Roberts, E.H. (1983). Effects of temperature and photoperoid on reproductive development of selected grain legume crops [Breeding].

7- Harries, M., & White, P. (2007, November). *Integrated weed management in Western Australia, s fight against herbicide resistant weed*. In 6th European Conference on Grain Legumes. Lisbon Congress Center, Portugal.

8- He, W., Wang, P., Chen, J., & Xie, W. (2020). Recent progress in the total synthesis of Strychnos alkaloids. *Organic & Biomolecular Chemistry 18*(6): 1046-1056.

9- Hosseini, N., Ebrahimi, S.N., Salehi, P., Asghari, B., & Ahmadi, M. (2011). Simultaneous determination of atropine and scopolamine in different parts of Hyoscyamus arachnoideus Pojark plants by high-performance liquid chromatography (HPLC). *Journal of Medicinal Plants Research 5*(15): 3552-3557.

10- Javadi, H., Moosavi, G.R., Seghatoleslami, M.J., & Shahbeygi, H. (2020). The effect of planting date, nitrogen and phosphorus on yield and yield components of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Applied Field Crops Research 33*(3): 54-72.

11- Lichtenthaler, H.K. (1987). *Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes*. In Methods in enzymology (Vol. 148, pp. 350-382). Academic Press.

12- Koyro, H.W. (2006). Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). *Environmental and Experimental Botany 56*(2): 136-146.

13- Niakan, M., Rezapour Mahjoob, S., & Ghorbanli, M. (2015). Effect of exogenous putrescine on growth, photosynthesis and alkaloid compounds of Datura (*Datura stramonium* L.) in response to salinity stress under hydroponic conditions. *Journal of Soil and Plant Interactions-Isfahan University of Technology 6*(1): 111-123.

14- Saberi, M.H., & Azarmjoo, A. (2015). Effect of planting date on yield of some agronomic traits in five rapeseed cultivars in Birjand. *7*(1): 9-.1. (In Persian)

15- Seyed Sharifi, R., Javanshir, A., Shakiba, M.R., Golazani, K., Mohammadi, A., & Seyed Sharifi, R. (2006). Maize analysis affected by density levels and different periods of interference Sorghum. *Desert Magazine 11*(1): 143-157. (In Persian)

16- Shiferaw, M., Tamado, T., & Asnake, F. (2018). Effect of plant density on yield components and yield of kabuli

chickpea (*Cicer arietinum* L.) varieties at Debre Zeit, Central Ethiopia. *International Journal of Plant & Soil Science* 1-6.

17- Oseni, O.A., Olarinoye, C.O., & Amoo, I.A. (2011). Studies on chemical compositions and functional properties of thorn apple (*Datura stramonium* L.) Solanaceae. *African Journal of Food Science 5*(2): 40-44.

18- Rezvani Moghadam, P., Boromand Reza Zade, Z.I.N.A.T., Mohamad Abadi, A.A., & Sharif, A. (2008). Effects of sowing dates and different fertilizers on yield, yield components, and oil percentage of castor bean (*Ricinus communis* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research 6*(2): 303-314.

19- Tian, C., Zhou, X., Fahmy, A. E., Ding, Z., Zhran, M.A., Liu, Q., & Eissa, M.A. (2020). Balanced fertilization under different plant densities for winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) grown on paddy soils in Southern China. *Industrial Crops and Products* 151: 112413.

20- Vogt, T. (2010). Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant 3*(1): 2-20.

21- Wagner, G.J. (1979). Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology 64*(1): 88-93.